

分子生物检验技术

主编 周立社



人民军医出版社



全国医药院校高职高专规划教材
供医学检验技术及相关专业使用

分子生物检验技术

FENZI SHENGWU JIANYAN JISHU

主 编 周立社
副 主 编 赵春艳 张 旭 孙文阁
编 者 (以姓氏笔画为序)
于 慧 包头医学院
王占黎 包头医学院
王海生 内蒙古医学院
邓秀玲 内蒙古医学院
孙文阁 赤峰学院医学院
李 静 商丘医学高等专科学校
吴茉莉 大连医科大学
张 旭 宁波天一职业技术学院
周立社 包头医学院
赵春艳 大连医科大学
闻人庆 金华职业技术学院
崔云鹏 沧州医学高等专科学校



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

北 京

图书在版编目(CIP)数据

分子生物检验技术/周立社主编. —北京:人民军医出版社,2012.3

全国医药院校高职高专规划教材

ISBN 978-7-5091-5468-7

I. ①分… II. ①周… III. ①分子生物学—医学检验—高等职业教育—教材 IV. ①R446

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 041808 号

策划编辑:曾小珍 文字编辑:陈 娟 责任审读:周晓洲

出 版 人:石 虹

出版发行:人民军医出版社

经销:新华书店

通信地址:北京市 100036 信箱 188 分箱

邮编:100036

质量反馈电话:(010)51927290;(010)51927283

邮购电话:(010)51927252

策划编辑电话:(010)51927300-8163

网址:[www. pmmp. com. cn](http://www.pmmp.com.cn)

印刷:三河市世纪兴源印刷有限公司 装订:京兰装订有限公司

开本:787mm×1092mm 1/16

印张:11.75 字数:283千字

版、印次:2012年3月第1版第1次印刷

印数:0001—4000

定价:24.00元

版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

全国医药院校高职高专规划教材(医学检验技术专业·第2版)

编 审 委 员 会

主任委员 张松峰 胡兴娥 周立社

副主任委员 鲁春光 任光圆 高凤兰
刘丕峰 胡 野 姚 磊

委 员 (以姓氏笔画为序)

尹卫东	甘晓玲	田 仁	吕 申
刘 军	刘 辉	刘有训	刘观昌
许郑林	孙永杰	寿佩勤	杨玉南
应志国	宋大卫	周晓隆	郑文芝
赵玉玲	胡志坚	哈学军	侯振江
郭化山	郭桂平	黄斌伦	崔成立
梁建梅	滕文锋		

编辑办公室 郝文娜 徐卓立 曾小珍 池 静
袁朝阳

全国医药院校高职高专规划教材(医学检验技术专业·第2版)

教 材 书 目

1. 生物化学检验技术
2. 血液检验技术
3. 病理检验技术
4. 临床实验室管理
5. 临床检验基础
6. 检验基础化学
7. 检验仪器分析技术
8. 免疫检验技术
9. 分子生物检验技术
10. 微生物检验技术
11. 寄生虫检验技术

出版说明

随着医学模式的转变,尤其是生物化学、分子生物学、免疫学、遗传学与基础学科的相互渗透,各种仪器和合成试剂的大量涌现,极大地促进了检验医学向着高理论、高科技、高水平方向发展。作为 21 世纪医学领域发展最快的学科之一,医疗卫生机构需要大批的医学检验和医学检验技术专业人才。为此,人民军医出版社组织全国多所高职高专院校的专家对《全国医药院校高职高专规划教材(医学检验技术专业)》进行修订再版,以适应当前医学检验技术领域职业教育形势的需要。

该套教材的第 1 版于 2006 年由人民军医出版社出版,具有良好的基础,几年来在多家医药院校使用,得到了关注和好评。本次修订再版工作在编委会的领导下展开,由多家院校专家认真研讨和广泛征求意见后,对内容和编排进行修订。教材秉承紧贴高职高专这一层次的人才培养目标,遵循“三基”“五性”的原则,补充了近年来医学检验技术领域的新知识、新技术、新方法,删减了不够实用的部分,并突出以下特色:精理论强实践,培养实用技能型人才。依据医疗机构临床实验室管理办法等一系列政策法规,以岗位需求为依据,参阅临床医学检验技术初级考试大纲,既具有针对性,又兼适用性。贯彻学历教育与职业资格证书考试相结合的精神,把职业资格证书考试的知识点与教材内容相结合。同时按照培养高端技能型人才的要求,吸纳行业专家参与教材体系的论证及教材编写。以“必需、够用”为前提,以“实用、会用”为目标,对传统教材内容进行了必要的精选、整合和优化,能更好地适应高职教改的需要。

打造一套紧扣大纲、顺应现代医学检验技术发展需要,适合教师教学、利于学生学习的好教材是所有参编院校的编写初衷和不懈追求,我们衷心感谢参编院校在该套教材编写过程中所给予的大力支持和辛勤付出。希望有关院校积极选用该套教材并及时反馈意见,使本套教材不断得到完善与提高,更好地为高职高专医药院校医学检验技术专业的职业教育服务。

前 言

自 20 世纪 70 年代以来,分子生物学获得了迅猛发展,逐渐成为生命科学最具有活力的学科前沿领域。近年来,由于分子生物学理论和技术不断地被应用于临床,在疾病的预防、诊断、疗效评价等方面发挥着越来越重要的作用,给分子诊断技术带来了革命性的变革。因此,分子诊断学已成为生命科学最具有活力的学科前沿。分子诊断技术也朝着高效、准确、灵敏的方向发展,极大地推动了现代检验医学的发展。

鉴于分子诊断技术快速发展和不断成熟,为了更好地规范《分子诊断学》课程的教学,我们组织编写了《分子生物学检验技术》,供全国高等医学院校高职高专学生使用。本教材着重于临床应用,在介绍有关分子诊断技术的基本概念和基本原理的同时,详细介绍了一些新近发展的重要技术及其应用,如蛋白质组研究技术、生物信息学技术等。

全书共 12 章。第 1 章为绪论。第 2 章和第 3 章着重介绍了基因组和基因组学,DNA、RNA、蛋白质等生物大分子的分离纯化等理论。第 4—9 章描述了 DNA 重组技术、DNA 测序技术、PCR 技术、核酸分子杂交技术、生物芯片技术以及蛋白质分析技术。第 10—12 章分别介绍了感染性疾病的分子诊断、遗传性疾病的分子诊断以及肿瘤的分子诊断技术及其临床应用。

分子生物学检验技术是一门处于快速发展的学科,尽管本教材的编写人员具有丰富的教学和临床工作经验,由于编写时间仓促,不足之处恳请广大同仁和读者不吝批评指正。

编 者

2011 年 12 月 12 日

目 录

第 1 章 绪论	(1)	二、DNA 片段的回收	(27)
第一节 分子诊断学的发展简史	(1)	第三节 原核生物 DNA 的分离纯化	(30)
第二节 分子诊断学的应用	(2)	细菌 DNA 的分离纯化	(30)
第 2 章 基因组与基因组学	(4)	第四节 病毒 DNA 的分离纯化	(31)
第一节 基因组和基因组学的概念	(4)	第五节 质粒 DNA 的分离纯化	(31)
一、定义	(4)	一、质粒 DNA 的提取与纯化方法	(31)
二、基因组大小与 C 值矛盾	(5)	二、质粒 DNA 的进一步纯化	(32)
三、基因组学的意义	(5)	第六节 RNA 的分离纯化	(33)
第二节 原核生物基因组	(6)	一、RNA 分离的条件选择	(33)
一、特点	(6)	二、总 RNA 的分离纯化	(34)
二、类核	(6)	三、mRNA 的分离纯化	(34)
三、质粒	(7)	第七节 蛋白质的分离纯化	(35)
四、转座因子	(9)	一、蛋白质分离纯化的原则和一般	
第三节 病毒基因组	(11)	程序	(36)
一、核酸的主要类型	(11)	二、材料选择	(36)
二、大小和碱基组成	(12)	三、细胞破碎的方法	(37)
三、结构与功能特征	(12)	四、分离蛋白质的方法	(37)
第四节 真核生物基因组	(13)	五、蛋白质分离纯化的条件因素	(39)
一、细胞核基因组	(14)	六、蛋白质含量和纯度分析	(40)
二、细胞器基因组	(16)	七、蛋白质的保存	(41)
第五节 人类基因组计划	(16)	第 4 章 DNA 重组技术	(42)
一、人类基因组计划的概况	(16)	第一节 工具酶与基因载体	(43)
二、人类基因组概貌	(17)	一、工具酶	(43)
三、人类基因组多样性	(19)	二、载体	(49)
第 3 章 生物大分子的分离与纯化	(21)	第二节 目的基因与载体连接	(54)
第一节 核酸分离纯化的总原则	(21)	一、目的基因的制备	(54)
一、材料与方法的选择	(22)	二、载体的选择	(55)
二、技术路线的设计	(22)	三、目的基因片段与载体的体外	
三、核酸的鉴定、保存	(24)	连接	(55)
第二节 真核生物 DNA 的分离纯化	(26)	第三节 重组 DNA 分子的导入、鉴定	
一、分离纯化的方法	(26)	与表达	(56)

一、将外源 DNA 分子导入宿主细胞	(57)	二、原位 PCR	(88)
二、目的基因的鉴定	(58)	三、致病病原体的检测	(89)
三、目的基因的表达	(59)	四、DNA 指纹、个体识别、亲子关系鉴定及法医物证	(90)
第 5 章 DNA 测序技术	(62)	五、动、植物检疫	(90)
第一节 双脱氧链末端终止法	(62)	六、其他	(90)
一、测序原理	(62)	第 7 章 核酸分子杂交技术	(91)
二、测序策略	(64)	第一节 核酸分子杂交基本原理	(91)
三、测序体系	(65)	一、基本原理	(91)
四、Sanger 法的衍生方法	(67)	二、影响因素	(93)
第二节 化学降解法	(67)	第二节 核酸探针的制备	(94)
一、测序原理	(67)	一、核酸探针的类型	(94)
二、测序体系	(69)	二、核酸探针的标记	(94)
三、化学降解法与双脱氧链末端终止法的比较	(70)	三、核酸分子杂交结果的检测	(96)
第三节 自动化测序	(70)	第三节 核酸分子杂交常用方法	(96)
一、全自动激光荧光 DNA 测序原理	(70)	一、Southern 印迹杂交	(96)
二、全自动激光荧光 DNA 测序程序	(71)	二、Northern 印迹杂交	(99)
三、全自动激光荧光 DNA 测序注意事项	(72)	三、斑点及狭缝印迹杂交	(100)
第四节 DNA 测序技术的应用	(72)	四、菌落杂交	(100)
一、对未知 DNA 序列进行测定 ..	(72)	五、原位杂交	(100)
二、对已知 DNA 序列进行测定 ..	(73)	六、液相杂交	(101)
第 6 章 聚合酶链反应技术	(74)	第四节 核酸分子杂交技术的应用	(102)
第一节 PCR 技术原理	(74)	第 8 章 生物芯片技术	(104)
一、PCR 基本原理	(74)	第一节 DNA 芯片	(104)
二、PCR 体系	(75)	一、DNA 芯片的分类与原理	(104)
三、PCR 基本步骤	(78)	二、DNA 芯片的制备	(105)
四、PCR 扩增产物的分析	(80)	三、样品的制备	(107)
五、PCR 常见问题	(83)	四、分子杂交反应	(107)
六、PCR 技术的质量控制	(84)	五、信号检测与结果分析	(107)
第二节 定量 PCR	(85)	六、DNA 芯片技术在医学领域的 应用	(107)
一、荧光定量 PCR 原理	(85)	第二节 蛋白质芯片	(109)
二、荧光化学	(86)	一、蛋白质芯片原理和分类	(109)
三、定量方法	(86)	二、蛋白质芯片制备	(111)
四、荧光定量 PCR 的应用	(87)	三、蛋白质芯片技术在医学领域的 应用	(111)
第三节 反转录 PCR 法与原位 PCR ..	(87)		
一、反转录 PCR 法	(87)		

第9章 蛋白质分析技术	(113)	二、解脲脲原体	(147)
第一节 概 述	(113)	第五节 梅毒螺旋体的基因检测 ..	(147)
第二节 双向凝胶电泳及图像分析 技术	(114)	第六节 原虫的基因检测	(148)
一、2-DE 的概念	(114)	一、弓形虫	(148)
二、样品制备	(115)	二、利什曼原虫	(149)
三、第一向电泳——IEF	(116)	三、溶组织内阿米巴	(149)
四、第二向电泳——SDS-PAGE	(117)	四、疟原虫	(150)
五、染色及显影方法	(117)	第七节 真菌的基因检测	(151)
六、2-DE 图谱的图像分析	(118)	一、念珠菌	(151)
七、2-DE 的特点	(119)	二、新型隐球菌	(152)
第三节 生物质谱	(119)	三、烟曲霉	(153)
一、质谱分析的基本原理	(120)	第11章 遗传性疾病的分子诊断	(154)
二、生物质谱技术	(121)	第一节 遗传性疾病的分类	(154)
三、生物质谱仪	(122)	一、单基因遗传病	(155)
第四节 其他蛋白质组分析技术 ..	(123)	二、多基因遗传病	(155)
一、蛋白质鉴定技术	(123)	三、染色体畸变遗传病	(156)
二、蛋白质相互作用分析技术	(123)	第二节 遗传性疾病的分子诊断 策略	(157)
三、生物信息学技术	(125)	一、遗传性疾病分子诊断策略的 基础	(157)
第五节 Western 印迹法	(127)	二、直接诊断策略	(158)
第10章 感染性疾病的分子诊断	(129)	三、间接诊断策略	(160)
第一节 病毒的基因检测	(130)	第三节 遗传性疾病的分子诊断 ..	(161)
一、乙型肝炎病毒	(131)	一、单基因病的基因诊断	(161)
二、丙型肝炎病毒	(133)	二、多基因病的基因诊断	(164)
三、单纯疱疹病毒	(134)	三、遗传性疾病基因诊断的意义 ..	(165)
四、巨细胞病毒	(135)	第12章 肿瘤的分子诊断	(167)
五、风疹病毒	(135)	第一节 肿瘤相关基因	(167)
六、人乳头瘤病毒	(136)	一、癌基因	(167)
七、人类免疫缺陷病毒	(139)	二、抑癌基因	(171)
第二节 病原菌的基因检测	(140)	三、其他肿瘤相关基因	(173)
一、结核分枝杆菌	(141)	四、癌基因、抑癌基因与肿瘤的 发生	(174)
二、淋病奈瑟菌	(142)	第二节 肿瘤基因诊断	(174)
三、幽门螺杆菌	(142)	一、肿瘤基因诊断的策略	(174)
四、细菌耐药基因检测	(143)	二、肿瘤基因诊断的原理和方法 ..	(175)
第三节 衣原体的基因检测	(145)	三、常见肿瘤相关基因的检测	(176)
一、沙眼衣原体	(145)	参考文献	(178)
二、肺炎衣原体	(146)		
第四节 支原体的基因检测	(146)		
一、肺炎支原体	(147)		

DNA 双螺旋结构模型的提出,标志着分子生物学作为一门独立学科的诞生。重组 DNA 技术、体外 DNA 扩增技术、分子杂交技术的发明,极大地推动了分子生物学理论和技术方法在临床中的应用,在疾病的预防、预测、诊断、疗效评价等方面发挥着愈来愈重要的作用。一个全新的临床检验新学科——分子诊断学,开始从实验室研究走向临床应用。与传统的临床检验学科相比较,分子诊断学更具有先进性、精确性和快速性,因此大大提高了诊断的特异性和灵敏度。迄今,分子诊断学虽然只有短短 20 多年的历史,但对疾病诊断学的影响却是革命性的。

第一节 分子诊断学的发展简史

分子诊断学是以分子生物学理论为基础,利用分子生物学的技术和方法研究人体内源性或外源性生物大分子和大分子体系的存在、结构或表达调控的变化,为疾病的预防、预测、诊断、治疗和转归提供信息和决策依据,是临床诊断学的一个重要分支。

回顾分子诊断学 20 余年的发展历史,大致经历了三个阶段。

(一) 以 DNA 分子杂交技术为基础的基因诊断

美国科学院院士美籍华裔科学家 Kan 等首先应用液相 DNA 分子杂交进行了镰形细胞贫血症的基因诊断。这是分子诊断的初级阶段,由于该技术是从疾病基因或与致病相关的基因及其表达产物的水平上进行检测,因此实现了疾病的早期诊断。不足之处在于,该技术主要是利用 DNA 分子杂交的方法来进行遗传病的诊断,所能检测的遗传性疾病的种类也比较少。

(二) 以 PCR 技术为基础的 DNA 诊断

20 世纪 80 年代中期聚合酶链反应 (PCR) 技术的问世,进一步推动了基因诊断技术的发展。PCR 技术由于其操作简便、快捷、适用性强,已被广泛应用于分子诊断学领域,并衍生出许多新的分子诊断方法,例如限制性核酸内切酶片段长度多态性分析、等位基因特异性 PCR、PCR 单链构型多态性技术等。特别是定量 PCR 和实时 PCR 的应用,不仅可以检测存在于宿主的多种 DNA 和 RNA 病原体载量,还可检测多基因遗传病细胞中 mRNA 的表达量。

(三) 以生物芯片技术为代表的高通量密集型检测技术

生物芯片技术是 20 世纪 90 年代中期以来影响最深远的重大科技进步之一, 根据芯片上固定的探针不同, 分为基因芯片、蛋白质芯片、组织芯片等。与传统的核酸印渍杂交技术(如 Southern blot、Northern blot 等)相比, 由于其工作原理和结果处理过程突破了传统的检测方法, 不仅具有样品处理能力强、用途广泛、自动化程度高等特点, 而且具有广阔的应用前景和商业价值, 因此成为分子诊断技术领域的一大热点。

第二节 分子诊断学的应用

分子诊断技术的不断发展, 使分子诊断学的内容由传统的 DNA 诊断发展为核酸及其表达产物(mRNA、蛋白质)的全面诊断, 使分子诊断学的策略也由利用分子杂交、PCR 等单一技术发展为多项技术的联合诊断, 使分子诊断学的方法从定性诊断发展到半定量和定量诊断, 应用范围也日益广泛, 从单基因疾病(门德尔遗传性疾病, 如白血病、早老症、血红蛋白病, 甲型肝炎病毒、人类免疫缺陷病毒、人乳头瘤病毒感染等)的诊断发展为多基因病(肿瘤、心脑血管疾病、代谢病、神经系统疾病、自身免疫性疾病等)的诊断, 并从治疗性诊断发展为预防性分析评价, 例如, 在乙型肝炎的诊断和治疗中, 应用 DNA 定量技术为乙型肝炎的治疗和预后监测提供了重要依据。目前, 分子诊断的主要应用如下。

1. 感染性疾病分子诊断 感染性疾病的诊断长期以来多采用形态学、生物化学及免疫学诊断方法, 这些方法存在灵敏性低、特异性低及速度慢等不足之处。随着各种病原体基因结构的阐明, 利用分子诊断技术早期、快速、敏感、特异地检测感染性病原体本身(RNA 或 DNA)成为可能。分子诊断技术不仅可以对微生物感染进行确诊, 还可对感染性病原体进行分型和耐药性监测, 因此在感染性疾病的临床诊断、流行病学调查、微生物分类分型研究中具有重要作用。

2. 遗传性疾病的分子诊断 目前已经发现的人类遗传性疾病有数千种, 主要有两类: 单基因遗传病和多基因遗传病(又称多因素性疾病), 前者符合孟德尔遗传规律, 而后者不符合孟德尔遗传规律。传统的诊断方法多以疾病的表型病变为依据。分子诊断技术较传统的表型诊断的优势是可以检测出致病基因的携带者, 产前基因诊断可以及早发现患病胎儿, 降低疾病的发生率。

3. 肿瘤分子诊断 肿瘤的发生受多种因素的影响, 而基因的异常是其中的原因之一, 肿瘤的发生常涉及多基因参与, 是一个复杂的生物学过程。肿瘤分子诊断则是伴随分子生物学理论和技术迅速发展而产生的一种新型诊断技术, 并已日趋完善。应用分子诊断技术, 对肿瘤发生的病理学机制及生物学行为可从分子水平上加以认识。目前研究较为深入的包括癌基因、抑癌基因以及其他相关基因。另外, 肿瘤标志在诊断肿瘤、检测肿瘤复发、判断疗效和预后以及人群普查等方面都有较大的应用价值。因此, 寻找特异性肿瘤基因型标志进行肿瘤基因诊断, 对于肿瘤的早期诊断、预防和治疗具有重要意义。

4. 其他 分子诊断可被用于多基因疾病的易感性判断, 如糖尿病、心血管疾病、自身免疫性疾病等一些有遗传因素和环境因素共同作用所致的疾病。分子诊断还被用于耐药性的诊断方面, 包括通过耐药基因表达改变来分析其耐药性, 或通过检测病原体的亚型或突变位点来分析其耐药性。另外, 分子诊断还被运用于疗效监控和卫生防疫等方面。

总之，分子诊断技术将朝着高效、准确、灵敏和无创伤性的方向发展。随着人类基因组计划的完成和蛋白质组计划的启动，分子诊断方法将极大地推动现代检验医学的发展，指导临床诊断和治疗，为改善人们的健康状况作出贡献。

(周立社 王占黎)

基因组与基因组学

基因组的概念由德国汉堡大学植物学教授汉斯·温克勒（Hans Winkler）于1920年首次提出，但直到20世纪70年代基因组研究才拉开序幕。由于受到测序等技术的限制，当时仅能对简单的病毒基因组进行研究。20世纪90年代人类基因组计划（Human Genome Project, HGP）的实施，正式宣告基因组时代的到来。基因组学的宗旨是全方位系统地阐释基因组的结构与功能，从而从总体上全方位系统地阐释生命规律。

本章仅粗略地介绍基因组的概况，以便于帮助大家了解基因组以及基因组学的发展，为检验医学实践提供新的思维方式。

第一节 基因组和基因组学的概念

一、定义

基因组学（genomics）是研究一个生物全部的遗传容量和表达调控过程的学科，主要包括两方面的内容：结构基因组学和功能基因组学，后者又被称为后基因组研究。对一个生物基因组的认识，将为人们提供全面认识其生命活动的基础。

结构基因组学着重研究基因组的物理特点，包括构建高分辨的遗传图、物理图、序列图和转录图以及蛋白质组成与结构。根据基因组序列能够预测基因结构和编码的蛋白，然后根据这些蛋白质和数据库中已知的蛋白质的相似性进行功能注释。因此，结构基因组学为功能基因组学和蛋白质组学的研究奠定了基础。

功能基因组学从基因组信息与外界环境相互作用的高度，阐明基因组的功能，包括基因组表达及调控的研究、人类基因信息的识别和鉴定、基因功能信息的提取和鉴定以及基因多样性分析等。在进行功能基因组研究中，人们采用了大规模基因表达检测技术去定性和定量地检测基因的表达产物 mRNA，以了解在不同环境下，基因的时空表达状况和协调作用。但 mRNA 本身存在贮存、转运、翻译调控和翻译产物后加工等程序，不能准确反映基因的最终产物——蛋白质的质和量。蛋白质组学作为功能基因组学的重要支撑，是研究一个基因组在一定生理状况下所表达的全套蛋白的概貌。关于蛋白质组学的内容，将在本书的第9章中详细介绍。

二、基因组大小与C值矛盾

生物体的单倍体基因组所含DNA总量称为C值。同一种生物的基因组大小总是恒定的，有其特定的C值，而不同物种的C值之间差异很大。例如，乙型肝炎病毒基因组仅3 200碱基对（base pair, bp），而一些植物和两栖类动物的C值可多达 10^{11} bp。由于生物体的结构与功能越复杂，需要越多的基因表达产物发挥作用，也就需要越大的基因组以安置更多的基因。因此，C值大小与生物进化程度基本成正比，病毒、原核生物、真核生物的C值依次递增。但是，这种相关性并不是很准确。例如，软骨鱼、硬骨鱼甚至昆虫和软体动物的基因组都大于包括人类在内的哺乳动物的基因组；爬行类和棘皮动物的基因组大小同哺乳动物几乎相等。在同一类生物中，不同种的基因组大小也有很大差别。例如，昆虫中的家蝇基因组比果蝇基因组大6倍左右；在被子植物中，螺旋狸藻基因组大小为63 Mb，而百合科的四倍体贝母的基因组大小为127 Gb，两者相差约2 000倍。因此，从总体上说，生物基因组的大小同生物在进化上所处地位的高低无关，这种现象称为C值矛盾。目前认为，非编码DNA是导致物种间基因组大小差异如此巨大的主要原因。

三、基因组学的意义

以基因组计划为先导的基因组研究使得从基因组的角度系统地认识生命活动规律成为可能，对医学、环境、人文等领域产生广泛的影响，也具有明显的社会和经济效益。

首先，基因组学为生命科学研究引入了新的方向。基因组学研究使得生物学家能够从整个基因组的层面去研究一个物种或多个物种的全部基因及其网络，而不是单纯研究一个或几个基因，因此对于全面系统地认识生命具有重要意义。研究对象的规模化对实验条件、科学家的素质及合作精神等都提出了更高的要求，小规模“作坊”式研究模式已经不能满足要求。同时，基因及其产物参与在复杂的、相互联系的分子网络系统中，这些系统的复杂性远远超出了分子生物学、遗传学已认识到的范畴，需要新的理论和分析检测技术，因此，基因组学大大促进了生命科学内部各学科以及生命科学与其他自然科学之间的交叉和发展。

其次，基因组学促进了药物的研究。基于结构的合理药物设计依赖于生物大分子的三维空间结构的精细测定。全基因组测序计划产生了大量的功能未知蛋白，结构基因组学研究可以获知未知蛋白质可能具有的辅基、金属配体以及酶的催化位点、调节区域等，为药物发现与设计提供了可能。同时，人类基因组中所有基因及其表达产物的确认和功能注释，也将为药物的研究提供更多更有效的作用靶点。

再次，基因组学对于医学的发展意义重大。野生型基因或突变型基因及其表达产物与疾病关系的研究，加深了人们对疾病分子机制的认识；基因组中各基因的结构和功能及其相互关系的研究，将有助于寻找预防和早期诊断人类遗传病的新方法；药物基因组学的研究，可使得医生根据每个人的基因特点开出最优化的个体化处方；同时，基因组学的研究可推动更安全有效的基因治疗载体的研制，因此将使基因治疗更为切实可行。

最后，基因组学对人文科学具有重要影响。人与人之间的基因存在差异，每一种差异对人类的生存都是有意义的，即使可能与疾病有关。基因无好坏优劣之分，任何“基因决定

论”的观点是没有科学依据的，是不符合人性的。因此，应该保护每个人的基因组信息的隐私，维护每一个社会成员的尊严。同时我们应该认识到，自然界中物种之间有着千丝万缕的亲缘关系，人类应正确处理好人与自然的关系。

第二节 原核生物基因组

原核生物基因组大小为 $10^6 \sim 10^7$ bp。1995 年第一个原核生物——流感嗜血杆菌基因组测序完成，现科学家已经完成了包括真细菌和古细菌在内的 160 多种原核生物基因组的测序工作。基因组数据的分析可以揭示原核生物基因组结构与功能，为致病菌的致病机制研究、新药的研究与开发、感染性疾病的诊断等奠定基础。

一、特点

原核生物基因组的一般特点为：①基因组由一条环状双链 DNA（double stranded DNA, dsDNA）分子组成，基因组较小。基因组 DNA 与支架蛋白和 RNA 结合形成一个较为致密的区域，即类核（nucleoid）。②原核生物基因组的功能单位为操纵子结构，数个操纵子还可以受同一个调节基因调控。操纵子中功能相关的结构基因串联在一起，受共同的调控区调控，经过转录过程存在于同一个 mRNA 分子中，成为多顺反子。大多数多顺反子先翻译为多肽链后，再被切割成几种蛋白。少数多顺反子在 mRNA 阶段被切割，然后再翻译成各自的蛋白质。③原核生物的结构基因一般为单拷贝基因。④原核生物基因组中非编码序列比真核生物少得多，占基因组的 10% 以内。非编码部分通常在调控区内。原核生物基因组中几乎没有重复序列，除古细菌外，也没有内含子。⑤原核生物基因组存在各种功能区，如复制和转录的起始区和终止区等，这些区域中往往有反向重复序列，从而形成特殊的结构。

二、类核

典型的原核生物基因组以环状双链 DNA 的形式存在于类核中。类核不是典型的细胞核，没有真核生物细胞核那样的复杂结构，不形成染色体，也没有核膜结构，但和真核生物基因组较为类似。原核生物基因组 DNA 分子在蛋白质的辅助下，可以一定的形式进行盘曲、折叠和包装。包装后的结构虽然不是真正意义上的染色体，但为了方便，我们仍沿用“染色体”这一称谓。原核生物仅有一条“染色体”。

对于类核中 DNA 的组织形式，目前对于大肠杆菌研究得最为充分。在 DNA 解螺旋酶和拓扑异构酶的作用下，大肠杆菌 DNA 分子会形成稳定的超螺旋结构。超螺旋 DNA 附着在支架蛋白上，会形成 100 个左右的放射状 DNA 环，其中大部分为超螺旋 DNA 环（图 2-1）。每个 DNA 环即是一个相互独立的功能区，从而使得基因组中不同区域的基因表达和调控能够独立进行。DNA 环通常与细胞膜相连，其功能可能与固定染色体有关。

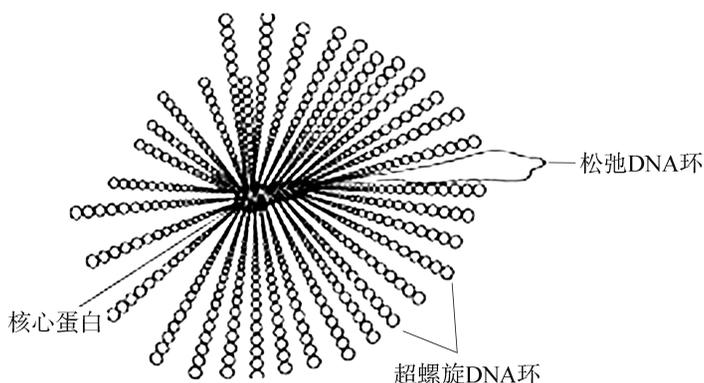


图 2-1 大肠杆菌的类核结构模型

类核的蛋白成分包括参与维持 DNA 超螺旋状态的 DNA 解螺旋酶和拓扑异构酶，以及其他至少 4 种蛋白质（在 DNA 包装过程中起特异作用），如 HU、IHF、H1 及 H 等。其中 HU 蛋白的含量最多，它能帮助 DNA 盘曲、压缩成念珠状结构，还参与 DNA 复制的启动，这些功能与真核生物组蛋白 H2B 类似。IHF 能帮助 λ 噬菌体与宿主 DNA 的整合和分离。H1 则可能参与 DNA 拓扑结构的形成和基因表达过程。H 蛋白的功能与真核生物组蛋白 H2A 相似，可以促进 DNA 单链形成双链。

三、质粒

质粒是指染色体外能自主复制的 DNA 分子。质粒普遍存在于细菌、酵母、真菌、植物、动物和人类中。质粒具有重要的研究和应用价值，与致病菌的毒力和耐药性有关，也是基因工程的常用载体。

（一）质粒的结构

质粒的核酸有的是 DNA，有的是 RNA。核酸分子有的是环状的，也有的是线性的。DNA 质粒没有蛋白质外壳，RNA 质粒则多有外壳。绝大多数细菌来源的质粒的结构是共价闭合环状 DNA（covalency closed circular DNA, cccDNA），为环状双链 DNA 分子，每条链通过共价键头尾相连。cccDNA 通常形成超螺旋结构，如果其中一条链产生缺口，则形成带缺口的环状 DNA，如果两条链都产生缺口，则形成线性 DNA。通常质粒 DNA 同时存在这三种结构形式，在琼脂糖凝胶电泳中泳动速度最快的为超螺旋结构，其次为线性和环状 DNA。质粒 DNA 的分子大小为几千到几万个碱基对。

（二）质粒的功能

质粒不是宿主细胞生存所必需的，但质粒的存在可以赋予宿主一些额外的性状。质粒 DNA 可以编码多种蛋白质，有些参与质粒自身的复制和维持质粒稳定性，有些与宿主细胞的各种抗性、致病性、代谢、接合转移等性状有关。细菌质粒所控制的一些性状如下。

1. 抗性

- （1）抗生素抗性：氨基糖苷类、 β 内酰胺类、大环内酯类及磺胺等。
- （2）抗金属抗性：汞离子及有机汞制剂、镍、钴、银、铬、铋及铊等。
- （3）阳离子抗性：砷酸盐、亚砷酸盐、铬酸盐及硼酸盐等。